6º CONGRESO FORESTAL ESPAÑOL

6CFE01-136

Montes: Servicios y desarrollo rural
10-14 junio 2013
Vitoria-Gasteiz

Edita: Sociedad Española de Ciencias Forestales
Vitoria-Gasteiz, 10-14 junio de 2013
ISBN: 978-84-937964-9-5
© Sociedad Española de Ciencias Forestales

Efecto del tratamiento con agua caliente en la germinación de *Ceratonia siliqua* L.

GARCÍA-SANCET, M.A.[1]

[1]Ing. Agrónomo y de Montes (Universidad de Córdoba). Consultor Forestal Freelance en el País Vasco.

Resumen

Se estudió el efecto del tratamiento con agua caliente e hirviendo en la escarificación y posterior germinación de semillas de *Ceratonia siliqua* L. en un diseño completo al azar con arreglo factorial. Los tratamientos realizados fueron: control e inmersión de las semillas en agua caliente durante 1, 2, 3, 4 y 5 minutos a 60, 70, 80, 90 y 100°C. La interacción entre los efectos temperatura de agua y duración del tratamiento fue altamente significativa (P<0,0001). La inmersión en agua durante 1 minuto a 100°C y 3, 4 y 5 minutos a 90 °C arrojaron los mejores resultados. Se encontraron diferencias significativas (P<0.05) respecto a los anteriores tratamientos realizados para tiempos superiores a 2 minuto a 100°C e inferiores a 3 minutos a 90 °C. Dichos resultados se compararon con el de inmersión en agua a 100 °C y post-enfriamiento gradual hasta temperatura ambiente (25°C aprox.). Se concluye que para temperaturas de agua inferiores a 80 °C es necesario prolongar la duración del tratamiento por encima de los 5 minutos para romper la testa de la semilla y el letargo físico en gran parte de semillas, mientras que a 100°C el efecto se produce en un periodo más reducido de tiempo. Se encontró una relación negativa significativa (r^2=0.618, P<0.0001) entre el tiempo promedio de germinación (MGT) y el porcentaje final de germinación (PG) para semillas procedentes de un único árbol con dicho tratamiento de pre-siembra.

Palabras clave

Escarificación de semillas, latencia física, testa, porcentaje de germinación final, tiempo promedio de germinación, mortalidad.

1. Introducción

El algarrobo (*Ceratonia siliqua*) es una especie xerofítica, esclerófila y perennifolia que se desarrolla con forma de matorral y árbol llegando alcanzar hasta 10 m de altura (TOUS y BATLLE, 1990). Perteneciente a la familia *Fabaceae*, subfamilia *Caesalpinioideae*, parece ser originaria de Arabia, Turquía y Siria (RUIZ DE LA TORRE, 2006; VAVILOV, 1951; DE CANDOLLE, 1883; SCHWEINFURTH, 1894 cit. en TOUS y BATLLE, 1990) siendo extendida por los fenicios (2000 A.C.) al resto de la cuenca mediterránea (SPINA, 1989), considerándose actualmente una especie naturalizada. Además de cultivarse por su fruto, para consumo animal y humano, tiene un gran interés en jardinería, paisajismo, y en restauración de áreas degradadas al aumentar la productividad de tierras marginales para otros cultivos (WINER, 1980;

MELGAREJO & SALAZAR, 2003). Sus semillas se caracterizan por poseer una testa cutinizada muy difícil de romper (CATALÁN, 1977), confiriéndoles un perdurable estado de latencia.

La latencia de las semillas se puede clasificar en cinco tipos básicos: física, debido a la impermeabilidad de la testa al agua y oxígeno; fisiológica, debida a mecanismos fisiológicos que inhiben la germinación; combinada de las anteriores, cuando la semilla tiene una testa impermeable y el embrión además es latente; morfológica, causada por un desarrollo aún incompleto del embrión; morfofisiológica, cuando el embrión no está completamente desarrollado y, al completarse presenta además latencia fisiológica (NARBONA *et al*., 2003; NIKOLAEVA, 2004; BASKIN & BASKIN, 2004) Las semillas de *Ceratonia siliqua* poseen latencia física debido a la dureza de su testa, constituyendo un banco persistente de semillas en el suelo (ORTIZ *et al*., 1995). Este tipo de latencia se da sobre todo en especies adaptadas a la alternancia de estaciones secas y húmedas, comprendidos varios géneros de leguminosas como *Acacia, Prosopis, Ceratonia, Robinia, Albizzia y Cassia* (FAO, 1991). En dicho estado, la semilla viable y madura no germina aunque los factores externos sean favorables para hacerlo, es decir, aunque las condiciones de temperatura, humedad, concentración de oxígeno, luz y/o nitrato sean las adecuadas (BASKIN & BASKIN, 1998, 2004; FINCH-SAVAGE & LEUBNER-METZGER, 2006; WILLAN, 2000). El estado de latencia en las semillas tiende a posponer o escalonar la germinación en el tiempo suponiendo un importante valor ecológico y adaptativo de la especie (PÉREZ, 2001; ORTIZ *et al*., 1995). Dicho estado de latencia física no debe asociarse a la ausencia de germinación, sino a una característica de la semilla que determina las condiciones requeridas para la germinación (THOMPSON, 2000).

Los tratamientos previos (físicos y químicos) utilizados para romper las cubiertas seminales tienen por finalidad la de ablandar y/o perforar las mismas para hacerlas permeables al agua y gases sin dañar el embrión ni el endospermo localizados en su interior (FAO, 1991; BONNER *et al*. 1984; BONNER, 1974), y se denominan tratamientos de escarificación. Uno de los tratamientos de escarificación más recomendados es el uso de agua caliente por su bajo costo y mínima contaminación (ALEXANDER & SÁNCHEZ, 2002) aunque para que el tratamiento sea eficaz, requiere ser estrictamente controlado en términos de temperatura exacta del agua, duración del periodo de inmersión y la proporción de volumen de agua por volumen de semilla (WILLAN, 2000). De lo contrario, los embriones pueden verse afectados irreversiblemente por un calentamiento excesivo (FAO, 1991; POULSEN & STUBSGAARD, 1995; NIEMBRO, 1989).

El tratamiento de escarificación se aplica para aumentar tanto el porcentaje como la velocidad de germinación, consiguiendo una germinación rápida y homogénea, completamente opuesta a lo que la latencia natural es capaz de lograr. Pero cuando la escarificación se aplica por lotes, con tratamientos como el agua caliente o hirviendo, no se puede hacer ninguna consideración con respecto a la variación individual entre semillas; un tratamiento apropiado para unas semillas de testa gruesa puede ser excesivo para otras de testa delgada, afectando al delicado embrión y matándolo (WILLAN, 2000), al tiempo que se produce un inevitable proceso de selección de las primeras sobre las segundas (PÉREZ-GARCÍA, 2009).

2. Objetivos

Los objetivos del presente estudio fueron: (1) estudiar el comportamiento de la germinación: porcentaje de germinación final (PG), y tiempo promedio de germinación (MGT) de *Ceratonia siliqua* L., escarificadas mediante inmersión en agua caliente bajo diferentes regímenes de temperatura y tiempo; (2) evaluar las situaciones en que los embriones de las semillas puedan verse afectados por sobrecalentamiento a través de funciones polinomiales; (3) estudiar la correlación entre porcentaje de germinación final y tiempo promedio de germinación.

Fig 1. *Árbol adulto de Ceratonia siliqua L., nascencia y germinación en placa petri (Pozuelo, Fot. Propias).*

3. Material y métodos

En septiembre de 2011 se recolectaron legumbres de algarrobo completamente maduras de una población centenaria situada en la provincia de Córdoba (España), en el macizo de Sierra Morena (37°58’ N; 4°45’ O). La precipitación y temperatura media anual son 560 mm y 24.8 °C respectivamente.

Las semillas extraídas a partir de las diferentes legumbres recolectadas, se obtuvieron de un único árbol de dicha población con el objetivo de reducir los efectos derivados de la variabilidad genética intrapoblacional. En este sentido TURNBULL *et al*. (2006), analizando los componentes de la varianza de la magnitud *masa* entre semillas de *Ceratonia siliqua*, encontraron diferencia significativa en el peso de las mismas entre diferentes árboles (30.4% del total de la varianza), entre legumbres dentro de un mismo árbol (13.4%) y entre semillas dentro de una misma legumbre (56.2%). Tras ser recolectadas en campo, las legumbres fueron llevadas a laboratorio donde se determinaron sus características, y se les extrajeron y conservaron sus semillas en un

lugar seco a una temperatura aproximada de 15°C hasta el establecimiento del ensayo 8 meses después. Las características del genotipo estudiado bajo las condiciones climáticas del año 2010-2011 fueron: longitud de legumbre, 10.62 cm; ancho de legumbre, 1.63 cm; número de semillas por legumbre, 5.49 (5.10 sanas, 0.39 vanas); peso promedio de semilla 0.268 g; peso promedio de legumbre, 6.78 g/leg; proporción peso de semillas y peso de legumbre, 0.1793.

Las semillas fueron tratadas con agua caliente en un baño modelo *Precisterm* con capacidad de regular y mantener la temperatura del agua, el cual fue previamente calibrado. Previamente fueron sumergidas en un baño de agua eliminando las flotantes con el objeto de separar aquellas que pudieran estar huecas o dañadas a causa del ataque de algún insecto o enfermedad. Las unidades experimentales consistieron en grupos de 50 semillas las cuales fueron sumergidas en dicho baño de agua mediante mallas impermeables fabricadas en fibra de vidrio, siendo la proporción volumen de agua:semila de 20:1. Durante la inmersión, dichas mallas eran agitadas para conseguir una mayor homogeneidad en el tratamiento de cada una de las semillas.

Una vez tratadas y extraídas del baño, las semillas fueron sembradas en placas *petri* con doble lámina de papel de filtro húmedo, y regadas regularmente con la cantidad de agua destilada requerida (dependiendo de la capacidad de imbibición de cada tratamiento). Las placas *petri* fueron colocadas en una sala bajo condiciones de temperatura controlada (25°C de T_{med} oscilando entre 22-28 °C) y un fotoperiodo de 14/10 h (luz/oscuridad).

Para el procesado de los datos hubo que medir los siguientes parámetros: porcentaje final de germinación (PG) y tiempo promedio de germinación (MGT) contabilizando cada dos días el número de semillas germinadas (radícula superior a 2 mm de longitud) durante un total de 45 días; número de semillas no germinadas al final del ensayo, distinguiendo entre aquellas que no sufrieron escarificación (semillas no embebidas) y las muertas (semillas embebidas no germinadas). Las semillas muertas atacadas por hongos fueron inmediatamente contabilizadas y eliminadas.

Bajo las mismas condiciones de incubación (25°C y 14 h de luz) se establecieron tratamientos con agua caliente para las mismas temperaturas (60, 70, 80, 90 y 100°C) pero para periodos de tiempo no definidos en el diseño experimental anterior, con el objetivo de modelar el porcentaje final de germinación. Se ajustaron satisfactoriamente funciones polinómicas para las temperaturas de 80, 90 y 100°C (Fig.2).

También se analizó el PG para los tratamientos consistentes en la inmersión instantánea en agua caliente a 60, 70, 80, 90 y 100 °C dejando enfriar gradualmente el agua durante 12 horas en una temperatura ambiente de 25° C.

Análisis estadístico

Se diseñó un experimento completo al azar con arreglo factorial y 4 réplicas, tomando como factores la temperatura del agua (5 niveles: 60, 70, 80, 90 y 100°C) y la duración del tratamiento (5 niveles: 1, 2, 3, 4, 5 minutos). Las variables estudiadas fueron PG (valor promedio ± error estándar), MGT (valor promedio en días ± error estándar), M (% semillas muertas,

afectadas por el tratamiento) y SE (semillas sin escarificar, considerándose aquéllas que no han sufrido imbibición). La variable MGT fue calculada de acuerdo a la ecuación propuesta por Ellis and Roberts (1981) y utilizada por numerosos autores para medir la tasa de germinación. La expresión es: MGT = ΣDN / ΣN; donde D es el número de días transcurridos desde la fecha de siembra y N es el número de semillas germinadas en cada uno de esos días D.

Los tratamientos de germinación efectuados se analizaron mediante un ANOVA bifactorial considerando ambos factores como fijos. El tratamiento estadístico de los datos, ajuste de regresiones y su representación se llevó a cabo con el paquete estadístico SigmaPlot. En los casos en que ANOVA detectó efectos significativos, se aplicó el método de la mínima diferencia significativa (LSD) de Fisher y se utilizó el test de Dunnet para comparar cada tratamiento con el control.

4. Resultados

El comportamiento de la germinación mostró una interacción significativa ($P<0.0001$) entre ambos factores, temperatura del agua y duración del tratamiento. El tratamiento control llevado a cabo a partir de semillas no sumergidas en agua dio porcentajes de germinación inferiores al 5 % al igual que el resto de tratamientos para temperaturas inferiores a 80 °C y 5 minutos de duración no existiendo diferencias significativas entre ellos. Sin embargo, si fueron significativos el resto de porcentajes de germinación de los demás tratamientos respecto al control ($P<0.05$). La inmersión en agua caliente durante 1 y 2 minutos a 100°C; y 3, 4 y 5 minutos a 90 °C arrojaron los mayores valores oscilando entre 86 y 96%, existiendo diferencias significativas ($P<0.05$) respecto a los tratamientos realizados para tiempos superiores a los dos minutos a 100°C e inferiores a 3 minutos a 90 °C.

Los valores de PG, MGT, porcentaje de semillas muertas (M) y semillas sin sufrir escarificación (SE) para los diferentes tratamientos y diferencias significativas se muestran en la tabla 1.

Los tratamientos de remojo de semillas en agua caliente a temperaturas instantáneas de 60, 70, 80 y enfriamiento diferencial hasta temperatura ambiente de 25°C no mostraron diferencias significativas ($P<0.05$) respecto al tratamiento control siendo el porcentaje de germinación en cualquier caso inferior al 5 %. Únicamente los tratamientos a 90 y 100°C dieron resultados significativos alcanzando el 60.5 y 79.5% respectivamente.

Cuando la inmersión se realizó en agua a 100 °C la germinación máxima se alcanzó para una duración de 1 minuto, no quedando prácticamente semillas sin escarificar (1%). Para tiempos superiores al minuto se alcanza casi la totalidad de semillas escarificadas (98.5-100%), sin embargo, la mortalidad de semillas aumenta de 3 al 90% de 1 a 5 minutos. Para 90 °C, son necesarios tiempos superiores a los 4 minutos para alcanzar porcentajes de escarificación superiores al 95%, comenzando a producirse una mortalidad considerable a partir de los 5 minutos (superior al 5%). Para temperaturas de 80 °C es necesario superar los 80 minutos de duración de tratamiento para alcanzar porcentajes de escarificación superiores al 90%,

iniciándose una mortalidad considerable (superior aprox. al 10%) a partir de los 30 minutos (tabla 1).

TRAT T^a (°C)-T(min)	PG (%)	SE (%)	M (%)	MGT (días)
60-1	0±0.00 f	100±0.00 a	0±0.00 f	-
60-2	0.5±0.57ef	99.5±0.57 a	0±0.00 f	-
60-3	1±1.15ef	99±1.15 a	0±0.00 f	-
60-4	0.5±0.57 ef	99.5±0.57 a	0±0.00 f	-
60-5	0.5±0.57 ef	99±1.15 a	0.5±0.57f	-
60-g	0±0.00 f	100±0.00 a	0±0.00 f	-
70-1	0.5±0.57 ef	99.5±0.57 a	0±0.00 f	-
70-2	0.5±0.57 ef	99.5±0.57 a	0±0.00 f	-
70-3	0±0.00 f	100±0.00 a	0±0.00 f	-
70-4	1.5±1.10 ef	98.5±1.10 a	0±0.00 f	-
70-5	3±1.49 ef	97±1.49 a	0±0.00 f	-
70-g	0,5±0.57ef	99.5±0.57 a	0±0.00 f	-
80-1	1±1.15ef	98.5±0.57 a	0±0.00 f	-
80-2	0.5±0.57ef	99±0.66 a	0±0.00 f	-
80-3	2.5±1.45ef	97.5±1.45 a	0±0.00 f	-
80-4	2.5±0.57ef	96.5±1.10 a	0.5±0.57 f	-
80-5	6.5±4.14 ef	92.5±4.45 a	0±0.00 f	20.50±0.28 a
80-g	0±0.00 f	100±0.00 a	0±0.00 f	-
90-1	29.0±9.57*d	71±11.05* b	0.5±0.57 f	18.74±0.51 a
90-2	56.5±5.85*c	40.5±8.13* c	7.5±2.56 e	15.30±1.33 b
90-3	89.5±2.62* ab	8.5±3.44* e	2±0.94 ef	11.65±0.88 b
90-4	90.5±2.62*ab	6±2.10* ef	3.5±1.45 ef	11.04±0.53 b
90-5	89.5±1.50*ab	4.5±1.97* ef	7±0.66 ef	12.68±1.11 b
90-g	60.5±8.42*c	31.5±10.38* d	8±0.94 e	16.11±0.38 ab
100-1	96.0±3.36* a	1±1.15* ef	3±2.74 ef	12.29±1.00 b
100-2	86.0±2.16* b	2±1.33* ef	12±1.63* de	14.44±0.66 b
100-3	61.0±6.85* c	1.5±1.73* ef	37.5±9.39*c	17.10±1.44 ab
100-4	38.0±6.48*d	0.5±0.57* ef	61.5±7.85* b	17.77±1.13 b
100-5	10.0±1.82 e	0±0.00* f	90±2.10* a	20.44±1.93 a
100-g	79.5±4.78*b	4±0.00*ef	16.5±5.52* d	14.90±0.28 b
Control	0.5±0.33 ef	99±0.66* a	0±0.00 f	-

*Tabla 1. Efecto de los diferentes regímenes de temperatura de agua y tiempo de inmersión en los porcentajes de germinación final (PG, valor promedio ± error estándar), tiempo promedio de germinación (MGT, valor promedio en días ± error estándar), mortalidad (M, valor promedio ± error estándar) y semillas no escarificadas (SE, valor promedio ± error estándar). Resultados obtenidos después de 45 días de seguimiento en condiciones de temperatura aprox. de 25 °C y 14 h de fotoperiodo. Los valores promedios representados en cada columna de PG, MGT, M y SE seguidos de la misma letra no muestran diferencias significativas para un nivel de significancia del 0.05% determinado mediante el test de diferencia mínima significativa (LSD). * Diferencia significativa (P<0.05) respecto al tratamiento control. –: No son considerados los valores de MGT para PG<5% ni M>5%; g: enfriamiento gradual del agua durante un periodo de 12 horas.*

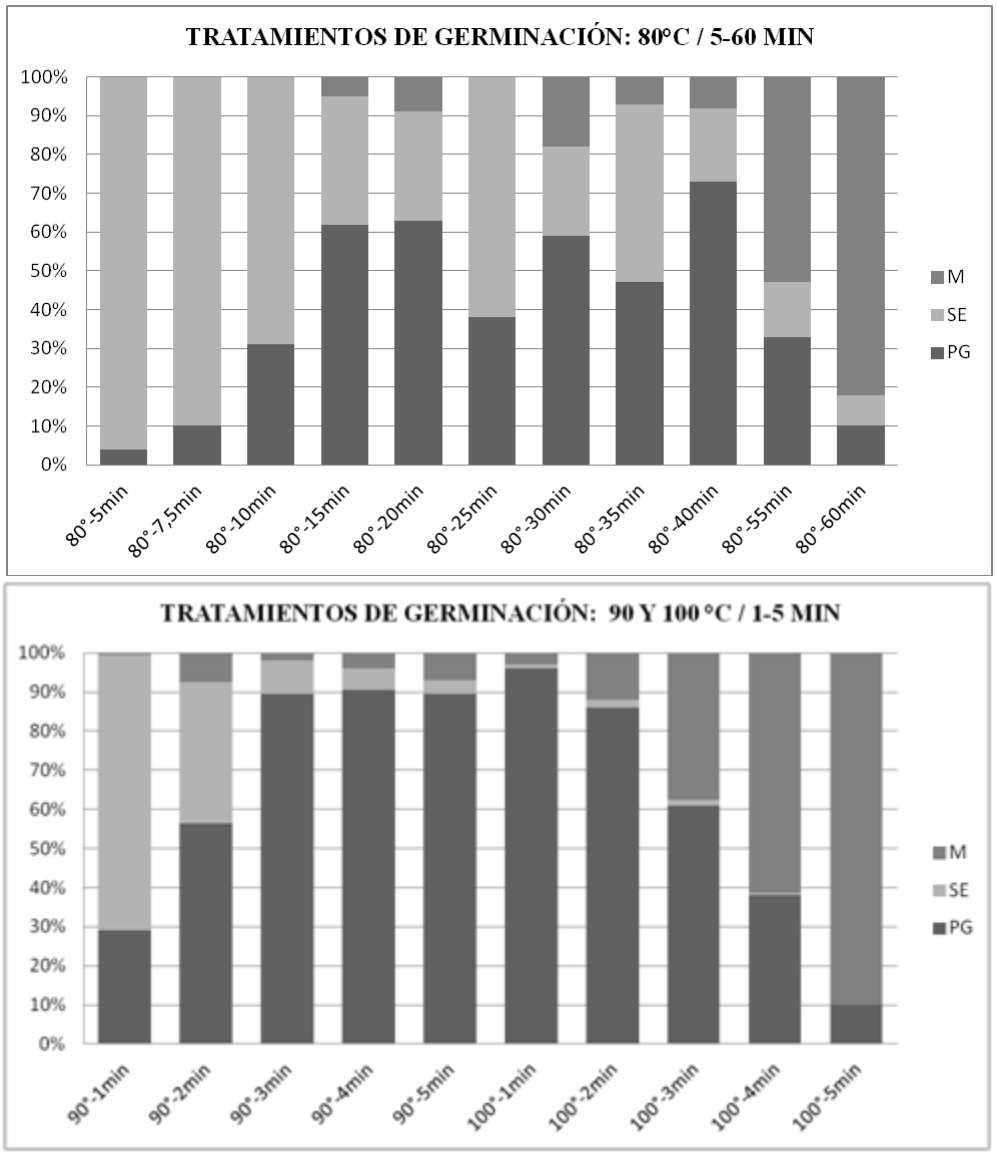

Fig 2. Efecto de diferentes regímenes de temperatura de agua y tiempo de inmersión de semillas de Ceratonia siliqua L. en los porcentajes de germinación final (PG), semillas no escarificadas (SE) y mortalidad (M). Resultados obtenidos tras 45 días de seguimiento bajo condiciones de incubación: temperatura aprox. de 25 °C y 14 h de fotoperiodo.

Se ajustaron y graficaron las funciones polinomiales y exponenciales de PG y escarificación (PE) respectivamente, frente a la duración del tratamiento para temperaturas de agua de 80, 90 y 100°C. Para las temperaturas de 60 y 70°C no se ajustó ninguna función dada la elevada heterogeneidad de resultados y no cumplirse los principios básicos de regresión.

Se encontró una correlación negativa significativa (r^2=0.618; P<0.0001) entre PG y MGT para el tratamiento de escarificación con agua caliente. Para ello se exceptuaron todos aquellos tratamientos con un PG inferior al 5% y aquéllos en los que el porcentaje de semillas muertas (M)

superase el 5%. Las condiciones óptimas de temperatura de agua y tiempo de inmersión para conseguir los mayores PG coincidieron con las mayores velocidades de germinación.

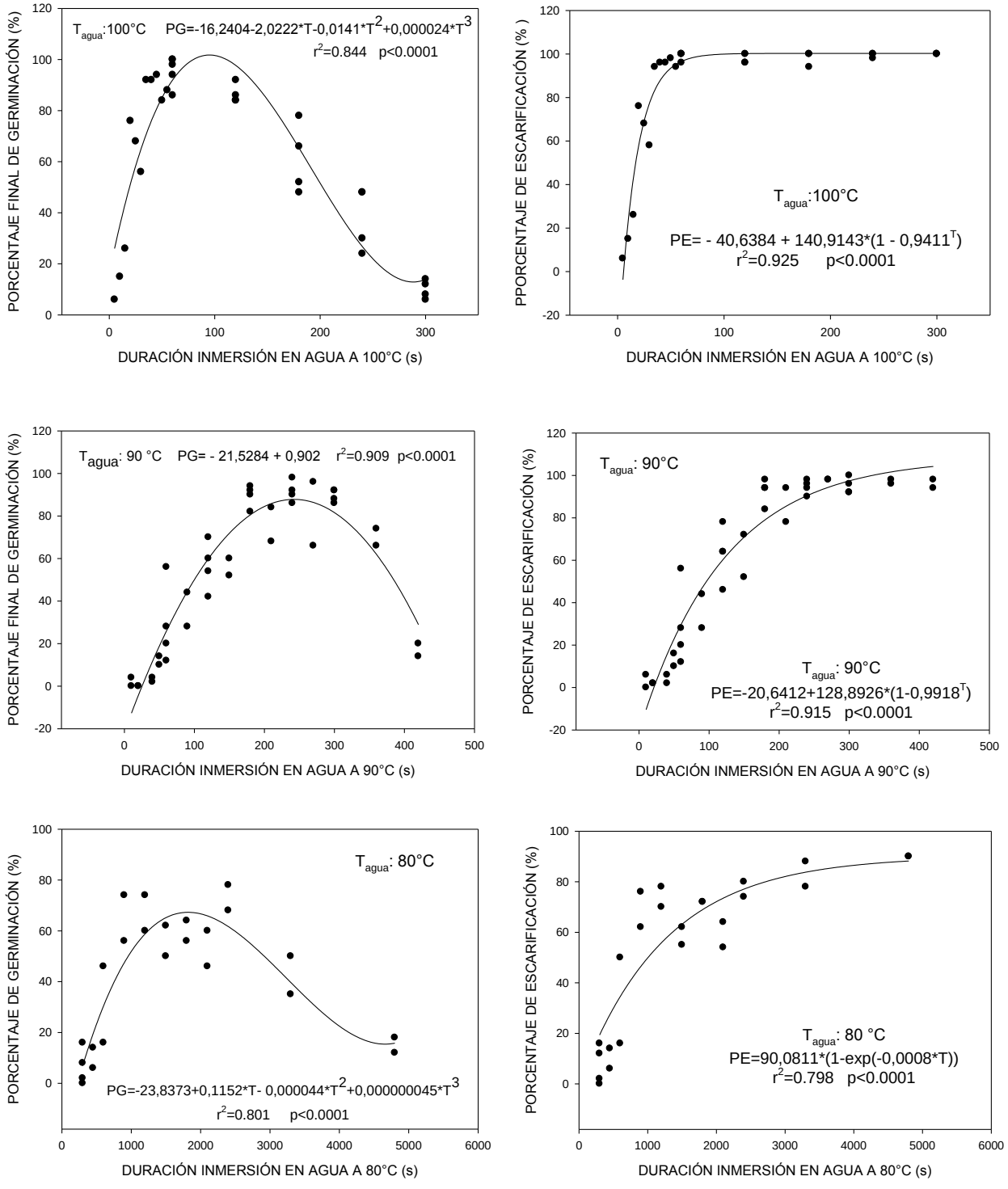

Fig 3. Funciones polinomiales y exponenciales del porcentaje de germinación final (PG) y el porcentaje de semillas escarificadas (PE), en relación al tiempo de duración del tratamiento de inmersión en agua a 100, 90 y 80 °C de temperatura.

5. Discusión

Existe una extensa literatura científica sobre métodos de escarificación de semillas de *Ceratonia siliqua* y más concretamente el de inmersión en agua caliente y/o hirviendo. Sin embargo, en gran parte de ellos no se ofrecen detalles del tiempo de duración de los tratamientos, de la permanencia en remojo de las semillas tras los mismos, de la proporción volumen agua:semilla, de la temperatura y el fotoperiodo durante la incubación, y de la afectación sobre las semillas resultantes.

Los porcentajes de germinación final de 86 y 79.5% obtenidos para tratamientos de inmersión en agua a 100°C durante 2 minutos, e instantáneo con post-enfriamiento gradual de 12 horas se aproximaron mucho al 80% obtenido en ensayos previamente realizados (FRUTOS Y BARONE, 1987; PÉREZ-GARCÍA, 2009; PALADINI, 1992) bajo condiciones bastante similares. Sin embargo para la misma temperatura de agua (100°C) y tiempo de inmersión de 1 minuto, el porcentaje de germinación promedio fue del 96 %. Para periodos superiores a los 3 minutos, el PG se redujo a 54% (3 minutos) y 16.5 % (5 minutos) debido a la mortalidad de semillas a causa de un sobrecalentamiento excesivo (FAO, 1991) por daños en el embrión.

El porcentaje de germinación en semillas de *Ceratonia siliqua* tomando como tratamiento pregerminativo el agua hirviendo (100°C) en una proporción 10:1 (10 partes de agua por cada parte de semilla), y posterior remojo durante 12-24 horas es del 80 % (PALADINI, 1992). PÉREZ-GARCÍA (2009) encontró una elevada variabilidad en el porcentaje de germinación de semillas tratadas con agua hirviendo y post-enfriamiento de la misma durante 24 horas hasta temperatura ambiente (25°C) y fotoperiodo 16:8 (horas luz:oscuridad) alcanzando igualmente valores promedio del 80% (80±0.2; %±SE). El mismo tratamiento fue realizado por BLANCO *et al*. (2009) pero con agua a 110°C y a 80°C y fotoperiodo 12:12 sobrepasando en ambos casos porcentajes del 80% de germinación.

Si bien el método más utilizado está basado en la inmersión de semillas en agua hirviendo, retirada de la fuente de calor y enfriamiento gradual del agua, existen algunas variantes recomendadas por sus buenos resultados por PIOTTO Y DI NOI (2003). Una de ellas es la inmersión en agua a 90 °C (5 volúmenes de agua por cada volumen de semillas) durante 5 minutos obteniendo en nuestro caso valores de 89.5 y 90 % para 5 y 4 minutos respectivamente siendo superiores a los obtenidos por el primer método y más utilizado.

Sin ningún tratamiento de escarificación, el porcentaje de germinación de semillas de algarrobo raramente exceden el 10% (PIOTTO y DI NOI, 2003) alcanzando en nuestro caso un 0.5%. Sin embargo, otros ensayos arrojan valores muy superiores 23-27% (PÉREZ-GARCÍA, 2009; PIOTTO Y CICARESSE, 1999). Semillas sembradas procedentes de legumbres recién recolectadas germinan bien sin necesidad de ser tratadas (RHIZOPOULOU Y DAVIES, 1991) pero si las semillas se secan, se endurecerán y no embeberán fácilmente agua a menos que se lijen o sumerjan en agua hasta que consigan hincharse (COIT, 1951). Este reducido porcentaje de 0.5%, pudo deberse al elevado tiempo (ocho meses) transcurrido desde la recolección hasta la siembra del ensayo, el cual pudo causar un endurecimiento agregado en la testa de la semilla o bien debido al propio genotipo (PÉREZ-GARCÍA, 2009).

El hecho de que nuestros resultados presenten cierto sesgo respecto a los obtenidos en la literatura científica, también se debe a la variabilidad del espesor y dureza de las testas de las semillas. Los valores promedio de otros rasgos fenotípicos como longitud, anchura, grosor y peso de las semillas de *Ceratonia,* han sido registrados para diferentes poblaciones naturales y cultívares en diferentes ecorregiones de varios países de la cuenca mediterránea (TETIK et al., 2011; SIDINA et al., 2009), poniendo de manifiesto su plasticidad fenotípica como mecanismo adaptativo de la especie.

.

La reducción de la temperatura del agua del tratamiento de inmersión, conlleva a una reducción de los máximos porcentajes de germinación y escarificación, con independencia de la duración de la inmersión, para periodos de incubación no superiores a 45 días. El PG sigue una función polinómica alcanzando un máximo, siendo inicialmente positiva la relación entre el PG y el PE (porcentaje de escarificación). A partir de ese máximo disminuye el PG y se mantiene constante el PE, esto es debido a la mortalidad de embriones por sobrecalentamiento, que se va incrementando según aumenta la duración del tratamiento (a T^a cte).

Conforme se incrementa la temperatura de los tratamientos, hay que prestar especial atención a no excederse en la duración de los mismos, ya que el rango de valores de los resultados obtenidos para las variables (PG, PE, M, SE) se incrementa para inferiores periodos de dicha duración, pudiendo pasar de una escarificación defectiva a un máximo valor de PG o a una considerable mortalidad de semillas en escasos segundos (Fig.2 y 3). Las curvas polinomiales del PG de semillas de *Ceratonia* frente al tiempo de inmersión de las semillas en agua para una temperatura dada, presentaron la misma forma que las obtenidas por CLEMENS et al (1977) para diferentes especies de *Acacia* (*A. falcata*, *A. terminalis*, *A. suaveolens*) igualmente con latencia física.

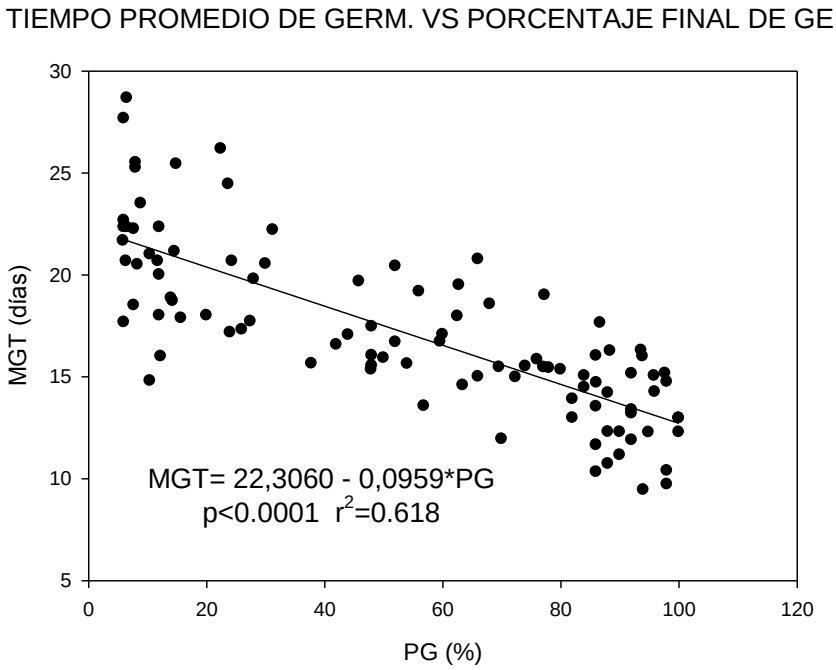

Fig. 3. Relación entre el Tiempo Promedio de Germinación (MGT) y el Porcentaje de Germinación Final (PG) para semillas de Ceratonia siliqua L. pretratadas con agua caliente.

El valor de MGT encontrado por FRUTOS Y BARONE (1987) para un PG del 98% en semillas de *Ceratonia siliqua* utilizando ácido sulfúrico al 80% fue de 11 días, muy similar a los obtenidos en nuestro ensayo, 11-14 días, para porcentajes próximos al 90% de germinación. No existe información sobre la relación de las variables PG y MGT para semillas de *Ceratonia siliqua* utilizando únicamente como método de escarificación la inmersión en agua caliente. No se encontró ninguna relación significativa entre dichas variables utilizando diferentes métodos de escarificación, pero sí una correlación negativa entre el PG y el peso de la semilla (PÉREZ-GARCÍA, 2009). Otros autores (SIMMONS Y JOHNSTON, 2000; BALOCH et al., 2001), si han encontrado relaciones significativas entre tamaño de semilla y GMT (relación positiva), y entre tamaño de semilla y PG (relación negativa) pero experimentando con semillas de otras especies igualmente con latencia física. Este hecho se explica por el mayor grosor de la testa en las semillas más pesadas, que son las de mayor tamaño.

Las condiciones óptimas de temperatura de agua y tiempo de inmersión para conseguir los mayores valores de PG coincidieron con los menores de MGT. La relación negativa significativa encontrada entre ambas variables se explica porque los bajos PG son resultantes de un tratamiento de escarificación defectivo en el que la rotura de la cubierta seminal se produce de manera parcial en algunas semillas y la consiguiente imbibición y germinación se produce posteriormente bajo condiciones favorables de humedad. En dicho sentido, puede justificarse dicha relación negativa por el hecho de que un tratamiento de escarificación efectivo que produzca la rotura de la testa de la mayoría de las semillas sin ser afectados sus embriones producirá el mayor porcentaje de semillas germinadas en el menor tiempo posible.

6. Conclusiones

La inmersión de semillas de *Ceratonia siliqua* L. en agua bajo diferentes regímenes de temperatura y tiempo arrojan resultados diferentes respecto al porcentaje de germinación, tiempo promedio de germinación, grado de escarificación y afectación al embrión. Sería necesario ajustar con precisión y de manera específica dichos regímenes para las semillas de cada árbol para conocer el tratamiento que logra el máximo porcentaje de germinación, dada la variabilidad inter- e intrapoblacional del grado de latencia física de sus cubiertas. A medida que aumentamos la temperatura del tratamiento, el rango de duración del mismo para alcanzar las variables derivadas del tratamiento (PG, PE, M, SE) se reduce. Para el método de escarificación basado en la inmersión en agua caliente para semillas de *Ceratonia siliqua*, se encontró una relación negativa entre el porcentaje y tiempo promedio de germinación, definiéndose el tratamiento más efectivo como aquel que produce el mayor porcentaje de semillas germinadas en el menor tiempo.

Bibliografía

ALEXANDER, J.; SÁNCHEZ, G.; 2002. Efecto del tratamiento con agua caliente e imbibición sobre la germinación de semillas de *Leucaena leucocephala*. *Rev. Cientif.* Vol. XII-Suplemento 2, Octubre, 581-583

BASKIN C.C.; BASKIN J.M.; 1998. Seeds. Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination. San Diego: Academic Press.

BASKIN C.C.; BASKIN J.M.; 2004. A classification system for seed dormancy. *Seed Sci. Res*. 14, 1-16. doi: 10.1079/SSR2003150.

BATTLE, I.; TOUS, J.; 1997. Carob Tree, Ceratonia siliqua L. *Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops.* No. 17. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute. 79 pp. Rome, Italy.

BLANCO, A.; CABEZOS, S.; RINCÓN, F.; TORRES, E.; MARTINEZ-SÁNCHEZ, J.J.; 2009. Estudio de las condiciones óptimas de germinación de tres especies vegetales mediterráneas de interés ornamental: algarrobo, apio caballar y espino negro. *Instituto de Biotecnología Vegetal de Universidad Politécnica de Cartagena*.

BONNER, F. T.; MCLEMORE, B. F.; BARNETT, J. P.; 1974. Presowing treatment of seed to speed germination. En: Schopmeyer C.S. Seed of woody plants in the United States, Agriculture Handbook No. 450. 109-116. Forest Service, USDA, Washington DC, USA.

BONNER, F. T. 1984. Glossary of seed germination terms for tree seed workers. USDA Forest Service. *Gen. Tech. Rep*. SO-49, Southern Forest Experiment Station.

CATALÁN, G.; 1977. Semillas de Árboles y Arbustos Forestales. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, ICONA. 392 pp. Madrid, España.

CLEMENS, J.; JONES, P. G.; GILBERT, N. H.; 1977. Effect of seed treatments on germination in *Acacia*. *Aust. J. Bot. 25*, 269-276.

COIT J.E.; 1951. Carob or St. John's Bread. *Journ. Econ. Bot.* 5, 82-96.

DE CANDOLLE, A.; 1883. L'origine de plantes cultivées. Balière, París.

ELLIS, R. A.; ROBERTS, R. H.; 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Sci. Technol*. 9, 373-409.

FINCH-SAVAGE, W. E.; LEUBNER-METZGER, G.; 2006. Seed dormancy and the control of germination. *New Phytol*. 171, 501-523.

FRUTOS, D.; BARONE, E.; 1987. Germinación de *Pistacia* spp. y *Ceratonia siliqua* L. En: International Union for Conservation of Nature and Natural Resources Botanic Gardens Conservation Secretariat. 125-126. Koeltz Scientific Books. Königstein/Germany.

MELGAREJO, P.; SALAZAR, D.M.; 2003. Tratado de Fruticultura para Zonas Áridas y Semiáridas. Volumen II: El Granado, el Algarrobo y el Jinjolero. Ed. Mundi-Prensa. 430 pp. Madrid, España.

WILLAN, R.L.; 1990. Seed Pretreatment. Danida Forest Seed Centre. Lecture Note C-10. 19 pp. Humlebaek Denmark.

NIKOLAEVA, M.G.; 2004. On criteria to use in studies of seed evolution. *Seed Sci. Res*. 14, 315-320 doi:10.1079/SSR2004185.

NIEMBRO, A.; 1989. Semillas de plantas leñosas. Ed. Limusa. 93 pp. México.

ORTIZ, P. L.; ARISTA, M.; TALAVERA, S.; 1995. Germination ecology of *Ceratonia siliqua* L. (Cesalpinaceae), a Mediterranean tree. *Flora* 190, 89-95.

PALADINI, E. F.; 1992. Observaciones culturales en vivero de árboles forestales en Mendoza. *Multequina* 1, 123-146.

PÉREZ, F.; 2002. Germinación y Dormición de Semillas. En: SÁNCHEZ, A.; ARROYO, M.; NAVARRO, R. M.: Material Vegetal de Reproducción: Manejo, Conservación y Tratamiento. 177-200. Consejería de Medio Ambiente. Junta de Andalucía. Sevilla, España.

PÉREZ-GARCÍA F.; 2009. Germination characteristics and intrapopulation variation in carob (*Ceratonia siliqua* L.) seeds. *Spanish Journal of Agricultural Research* 2009 7(2), 398-406.

PIOTTO, B; DI NOI, A.; 2003. Seed propagation of mediterranean trees and shrubs. Agency for the Protection of the Environment and for Technical Services (APAT). 108 pp. Rome, Italy.

PIOTTO B., CICCARESE L.; 1999. Storage of scarified seeds of *Leguminosae* trees and shrubs. Canadian Tree Improvent Association, News Bulletin No 30, 6-7.

POULSEN, K. M. & STUBSGAARD, F.; 1995. Three methods for mechanical scarification of hardcoated seed. Danida Forest Seed Centre. Technical Note No 27. 15 pp. Humlebaek, Denmark.

RHIZOPOULOU, S.; DAVIES, W.J.; 1991. Influence of soil drying on root development, water relations and leaf growth of *Ceratonia siliqua* L. *Oecología* 88, 41-47.

RUIZ DE LA TORRE, J.; 2006. Flora Mayor. Organismo autónomo Parques Nacionales, Dirección General para la Biodiversidad. 1756 pp**.** Madrid, España.

SAS. 2012. SAS/STAT User's guide. Second Edition. North Carolina USA.

SCHWEINFURTH, G.; 1894. Sammlung arabich-aethiopischer Pflanzen, Ergebnisse von Reisen in den Jahren 1881, 1888-89, 1891-92. *Bull. Herb. Boissier* 2: 1-114.

SIMMONS A.M.; JOHNSTON M.O.; 2000. Variation in seed traits of Lobelia inflate (Campanulaceae): sources and fitness consequences. *Am. Jour.. Bot.* 87, 124-132. doi: 10.2307/2656690.

SPINA, P.; 1989. El algarrobo. Mundi-Prensa. 158 pp. Madrid, España.

SIDINA, M. M.; EL HANSALI, M.; WAHID, N.; OUATMANE, A.; BOULLI, A.; HADDIOUI, A.; 2009. Fruit and seed diversity of domesticated carob (*Ceratonia siliqua* L.) in Morocco. Scientia Horticulturae,123: 110-116. Elsevier.

TETIK, N.; THURAN, I.; OZIYCI, H. R.; GUBBUK, H.; KARHAN, M.; ERCISLI, S.; 2011. Physical and chemical characterization of *Ceratonia siliqua* L. germplasm in Turkey. Scientia. Horticulturae, 129: 583–589. Elsevier.

THOMPSON, K. 2000. The functional ecology of soil seed Banks. In: Fenner M, ed. *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities.* Wallingford UK: CAB International, 215-235.

TOUS, J.; BATLLE, I.; 1990. El Algarrobo. Mundi-Prensa. 103 pp. Madrid, España.

TURNBULL, L.A.; SANTAMARIA, L.; MARTORELL, T.; RALLO, J.; HÉCTOR, A.; 2006. Seed size variability; from carobs to carats. *Biol. Lett*. vol. 2 no. 3, 397-400. doi:10.1098/rsbl.2006.0476 .

VAVILOV, N.I.; 1951. The Origin, Variation, Immunity, and Breeding of Cultivated Plants. The Ronald Press Co., New York.

WINER, N.; 1980. The potential of the carob (*Ceratonia siliqua*). *International tree crops journal,* V.1 (1), 15-26.

Bibliografía internet.

http://www.fao.org/docrep/006/AD232S/AD232S00.HTM. FAO. 1991. *Guía para la manipulación de semillas forestales.* Depósito de documentos de la FAO. Departamento de Montes.